动 物 学 研 究 2004, Feb. 25 (1): 37 ~ 42 CN 53 - 1040/Q ISSN 0254 - 5853
Zoological Research

维生素 C 和 E 混合饲喂对中华鳖幼鳖抗酸应激能力的影响

周显青[1,2]，牛翠娟[1]，孙儒泳[1]

(1. 北京师范大学 生命科学学院生物多样性与生态工程教育部重点实验室，北京 100875；
2. 首都医科大学 实验动物科学部，北京 100054)

摘要：来自甲鱼养殖场的 60 只中华鳖（*Pelodiscus sinensis*）幼鳖驯养 3 周后，实验设 5 组：对照组、处理Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ组。各组设 2 个平行，依次在饵料中混合添加维生素 C（V_c）和 E（V_E）为 0 和 0、250 和 50、2 500 和 50、250 和 250、2 500 和 250 mg/kg，喂食 4 周后，每组取半数幼鳖经酸应激处理 24 h。取幼鳖血液，用镜检法测定血细胞的吞噬率，透射比浊法测定血清溶菌活力、杀菌活力以及补体 C3 和 C4 含量。①经酸应激与未经酸应激处理相比：对照组血细胞吞噬率显著降低，而处理Ⅰ ~ Ⅳ组无显著变化；对照组和处理Ⅰ组血清溶菌活力和补体 C3 含量显著下降，而处理Ⅱ ~ Ⅳ组无显著变化；血清杀菌活力均有显著下降（对照组、处理Ⅰ和Ⅲ组极显著，处理Ⅱ组和Ⅳ组显著）；对照组、处理Ⅰ和Ⅲ组血清补体 C4 显著下降，而处理Ⅱ和Ⅴ组无显著变化。②经酸应激处理，血细胞吞噬率、血清溶菌活力、杀菌活力和补体 C3 含量，处理Ⅰ ~ Ⅳ组的均显著高于对照组，处理Ⅳ组显著高于其他 4 组；血清杀菌活力，处理Ⅱ组又高于处理Ⅰ和Ⅲ组；血清补体 C4，对照组显著低于处理Ⅰ ~ Ⅳ组，而处理Ⅰ ~ Ⅳ组间无显著相异。V_c 和 V_E 混合饲喂对酸应激后中华鳖血细胞吞噬率、血清溶菌活力、杀菌活力和补体 C3 含量有显著协同促进作用，对血清补体 C4 的合成无协同作用。说明 V_c 和 V_E 混合饲喂能显著增强中华鳖抗酸应激能力，缓解或部分缓解酸应激造成的不利影响。

关键词：维生素 C；维生素 E；酸应激；吞噬率；溶菌活力；杀菌活力；补体 C3；补体 C4
中图分类号：Q959.63；Q955 **文献标识码**：A **文章编号**：0254 - 5853(2004)01 - 0037 - 06

Effects of the Combination Feeding of Vitamin C and E on Anti-acid Stress Ability in Juvenile Soft-shelled Turtles (*Pelodiscus sinensis*)

ZHOU Xian-qing[1,2], NIU Cui-juan[1], SUN Ru-yong[1]

(1. *Ministry of Education Key Laboratory for Biodiversity Science and Ecological Engineering*, *Institute of Life Sciences*, *Beijing Normal University*, *Beijing* 100875, *China*; 2. *Department of Laboratory Animal Science*, *Capital University of Medical Sciences*, *Beijing* 100054, *China*)

Abstract: The 60 juvenile soft-shelled turtles (*Pelodiscus sinensis*) obtained from a commercial farm were acclimated in laboratory for three weeks. The five groups juvenile turtles [one control group (C) and four experimented groups (Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ)] were fed with V_c and V_E supplementation at the dosages of 0 and 0, 250 and 50, 2 500 and 50, 250 and 250, 2 500 and 250 mg/kg diets, respectively. There were two replicates per group. After feeding 4 weeks, half turtles per group were treat with acid-stress for 24 h. The blood in turtles were collected, and the percentage phagocytic rate of blood cell was analyzed by counting under microscope; serum bacteriolytic activity, bactericidal activity, levels of complement C3 and C4 were analyzed by transmission colorimetric method. The results showed: ①the phagocytic rates of blood cell in stressed C significantly lowered compared with non-stressed C, while there were no significant changes in the other four groups of Ⅰ - Ⅳ between stressed and non-stressed turtles; serum bacteriolytic activity and the level of complement C3 in the stressed C and Ⅰ significantly declined, while there were no significant changes in Ⅱ - Ⅳ compared with non-stress groups. Serum bactericidal activity in all stressed groups lowered (the three groups of C, Ⅰ and Ⅲ tremendously significantly lowered, and Ⅱ and Ⅳ significantly lowered). The levels of complement C4 in the stressed three groups of C, Ⅰ and Ⅲ were significantly declined, while the other stressed two groups of Ⅱ and Ⅳ had no significant change compared with non-stressed ones. ②Among of the acid stressed juvenile turtles, the phagocytic rate of blood cell, serum bacteriolytic activity, bactericidal activity and level of complement C3 in Ⅰ - Ⅳ were significantly higher than that in C, and Ⅳ was significantly higher than the other four groups. The bactericidal activity in Ⅱ was higher than

收稿日期：2003 - 08 - 06；接受日期：2003 - 11 - 03

both Ⅰ and Ⅲ. The level of complement C4 in C was significantly lower than those in Ⅰ - Ⅳ, while there was no significant difference among the four groups of Ⅰ - Ⅳ. The combination of V_c and V_E had interaction effects on the phagocytic rate of blood cell, serum bacteriolytic activity, bactericidal activity and the level of complement C3 after acid stress, while no interaction effect of the two vitamins on complement C4 was observed. The results suggested that the combination of V_c and V_E significantly improved anti-acid stress ability in soft-shelled turtles, and alleviated or partly alleviate the adverse effects caused due to acid stress.

Key words: Vitamin C; Vitamin E; Acid stress; Phagocytic rate; Bacteriolytic activity; Bactericidal activity; Complement C3; Complement C4

应激是机体对外界或内部的各种异常刺激所产生的非特异性应答反应的总和，会对机体产生许多不利影响。如转运应激能降低虹鳟（*Oncorhynchus mykiss*）白细胞的吞噬率和血浆溶菌酶含量（Jeney et al, 1997）；拥挤胁迫能抑制赤鲷（*Pagrus pagrus*）非特异性免疫（Rotllant et al, 1997）。因此，如何防止应激和减轻应激的程度是该领域研究的热点。2 000 mg/kg 维生素 C（V_c）的添加能补偿农药高丙体六六六引起的虹鳟 B 淋巴细胞的下降（Dunier et al, 1995），部分地缓解高温（Pardue et al, 1985）和冷暴露（Gross, 1988）导致的鸡抗体反应的下降。维生素 E（V_E）能减轻剧烈训练对肌细胞造成的氧化损伤（Sacheck & Blumberg, 2001）。V_c 和 V_E 合用对金头鲷（*Spparus aurata* L.）白细胞的移动和吞噬作用有显著的协同促进作用（Mulero et al, 1998），但对豚鼠肝脏 DNA 的氧化损伤无影响（Cadenas et al, 1997）。

水质污染和疾病蔓延等是中华鳖在人工养殖过程中经常面临的问题，对其生长和存活极为不利。水质污染包括水质酸化、盐浓度变化以及富养化等。为增强中华鳖在应激条件下对新环境的适应能力和对疾病的抵抗力，我们曾经以水质 pH 为应激源，在饵料中添加 V_E 研究其含量对酸应激中华鳖幼鳖血清补体 C3 和 C4 的影响（Zhuo et al, 2003）。其结果表明 V_E 在一定剂量范围内能促进血清补体 C3 和 C4 的合成。在此基础上试图探讨 V_c 和 V_E 混合添加对中华鳖抗应激能力的影响。以下是这一工作的继续报道。

1 材料和方法

1.1 实验动物和驯化

实验用中华鳖（*Pelodiscus sinensis*）幼鳖购于北京顺义县天竺甲鱼养殖场，买回后饲养于实验室玻璃缸内。饲养和驯化条件同 Zhou et al（2003）。在此条件下驯养 3 周，使其适应实验室环境条件后再开始实验。

1.2 实验设计

选用 60 只健康的中华鳖幼鳖（体重范围为 103.4 ~ 214 g），将其随意分成 5 组。每组 12 只分设两个平行，分别置于 60 cm × 30 cm × 40 cm 的玻璃缸中。由于幼鳖外观上难以区分雌雄，因此本实验不分性别。5 组动物的饵料除了 V_c 和 V_E 的添加量不同外，其他营养成分与驯化期间相同。设置 V_c 和 V_E 添加量的依据是：在 V_c 和 V_E 单独实验结果的基础上，分别选择一个最低剂量和促进免疫的剂量。因此，对照组和处理Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组饵料中，V_c 和 V_E 的添加量依次为 0 和 0、250 和 50、2 500 和 50、250 和 250、2 500 和 250 mg/kg。实验期间饵料存放在 -20 ℃的冰箱中，每天喂食前 4 h 从冰箱内取出。其他实验条件的控制与驯化期间相同。实验进行 4 周后，每缸取一半幼鳖断头处死，收集血液在 4 ℃条件下离心制备血清。然后用盐酸将玻璃缸中的水从 pH 7.9 调至 pH 5，24 h 后将另一半幼鳖处死做同样处理，血清存放在 -20 ℃冰箱中，以备下列指标测定。

1.3 血细胞吞噬作用的测定

按 Wang（1997）的方法测定血细胞吞噬作用。将高效活性干酵母放在 2% 的蔗糖水溶液中，用盐酸调节该溶液至 pH 3 ~ 4。30 ℃水浴 2 h，然后再煮沸 0.5 h 将酵母菌杀死。离心除去上清液，用无菌生理盐水洗 2 次，再除去上清液，最后将酵母菌用无菌生理盐水配成浓度为 2×10^8 个/mL 的悬液。

取 40 μL 幼鳖血滴于塑料凹孔板中，然后加肝素 20 μL、酵母菌悬液 20 μL，混匀，放入密封的湿盒内，于 37 ℃培养箱中培养 30 min。其间每隔 10 min 取出凹孔板摇一次，培养结束后充分摇匀。然后将幼鳖血涂片，甲醇固定 3 min，Giemsa 染色 10 min，在显微镜下观察计数。计数 100 个血细胞，记下吞噬酵母菌的细胞数，并按下式计算血细胞吞噬率：

$$血细胞吞噬率 = \frac{吞噬酵母的血细胞数}{100 个细胞} \times 100\%$$

1.4 血清溶菌活力的测定

以溶壁微球菌（*Micrococcus lysoleikticus*）冻干粉为底物，按照 Hultmark et al（1980）和 Wang et al（1994）的方法进行。将底物用 0.1 mol/L、pH 6.4 的磷酸钾盐缓冲液配成一定浓度的悬液（$OD_{570} \approx 0.3$）。取该悬液 3 mL 与 50 μL 待测血清于试管中混匀，测定其水浴前在 570 nm 处的光密度值（A_0）；然后将其置于 37 ℃水浴保温 30 min，取出后立即置冰浴中 10 min 以终止反应，测定其保温后在 570 nm 处的光密度值（A）。溶菌活力 Ul 按下式计算：

$$Ul = (A_0 - A) / A$$

1.5 血清杀菌活力的测定

以副溶血弧菌（*Vibro parahaemolyticus*）为底物，采用 Wang & Li（1996）的方法测定。将底物用 0.1 mol/L、pH 6.4 的磷酸钾盐缓冲液配成一定浓度的菌悬液（$OD_{570} = 0.35 \sim 0.5$）。

取该悬液 3 mL 与 50 μL 待测血清于试管中混匀，测其在 570 nm 处的光密度值（A_0）；然后置于 37 ℃水浴保温 30 min，取出后立刻置于冰浴中 10 min 以终止反应，测其在 570 nm 处的光密度值（A）。杀菌活力按下式计算：

$$U_k = [(A_0 - A) / A]^{1/2}$$

1.6 血清补体 C3 和 C4 含量的测定

按照 Zhou at al（2003）描述的方法进行测定。

1.7 数据分析

实验所得数据采用 Statistica 统计软件包做统计分析。所有的结果均以平均值 ± 标准差来表示。

2 结 果

2.1 酸应激后血细胞吞噬率、血清溶菌活力、血清杀菌活力的变化

与未经酸应激的处理相比，中华鳖对照组血细胞吞噬率显著降低；处理Ⅰ～Ⅳ组虽有下降的趋势，但无显著差异；并随着 V_c 和 V_E 剂量的增加，血细胞吞噬率下降的幅度越来越小（图 1A）。V_c 和 V_E 混合饲喂对经酸应激的吞噬率有显著促进作用（Two－way ANOVA：$F_{1,24} = 4.93$，$P < 0.05$）：处理Ⅱ～Ⅳ组均显著高于对照组，Ⅳ组显著高于其他 4 组（图 1A）。

与未经酸应激的处理相比，对照组和处理Ⅰ组血清溶菌活力显著下降；而处理Ⅱ～Ⅳ组无显著差异；随着 V_c 和 V_E 剂量的增加，溶菌活力下降的幅度逐渐减小（图 1B）。V_c 和 V_E 混合饲喂对经酸应激的溶菌活力有显著促进作用（$F_{1,25} = 4.59$，$P < 0.05$）：经应激处理的Ⅰ～Ⅳ组极显著高于对照组，处理Ⅳ组也极显著高于其他 4 组（图 1B）。

与未经酸应激的处理相比，对照组和处理组血清杀菌活力均显著下降；对照组、处理Ⅰ组和Ⅲ组均有极显著差异；处理Ⅱ组和Ⅳ组有显著差异（图 1C）。V_c 和 V_E 混合饲喂对经酸应激的杀菌活力有显著促进作用（$F_{1,26} = 4.89$，$P < 0.05$）：处理Ⅰ～Ⅳ组杀菌活力显著高于对照组，Ⅱ组高于Ⅰ和Ⅲ组，Ⅳ组高于其他 4 组（图 1C）。

2.2 酸应激后血清补体 C3 和 C4 的变化

与未经酸应激的处理相比，中华鳖对照组和处理Ⅰ组血清补体 C3 和 C4 的含量显著下降；处理Ⅱ～Ⅳ组虽有下降的趋势，但无显著变化（图 1D 和 1E）。

饵料中添加 V_c 和 V_E 对酸应激的补体 C3 有显著促进作用（$F_{1,27} = 4.93$，$P < 0.05$）：经酸应激处理后，Ⅰ～Ⅳ组补体 C3 极显著高于对照组，Ⅳ组也极显著高于其他 4 组（图 1D）。饵料中添加 V_c 和 V_E 对酸应激的补体 C4 合成无促进作用（$F_{1,27} = 2.47$，$P > 0.05$）：经酸应激处理的对照组补体 C4 极显著低于处理Ⅰ～Ⅳ组，而处理Ⅰ～Ⅳ组间无显著差异（图 1E）。

3 讨 论

3.1 V_c 和 V_E 合用的作用差异可能与剂量以及个体的特异性有关

已往 V_c 和 V_E 合用对应激引起的机体损伤的作用结果不尽相同。V_c 和 V_E 合用不仅对病毒感染的大鼠心肌细胞具有保护作用和协同增效作用（Zhang et al，1996），而且对鱼类白细胞的吞噬作用有协同促进作用（Mulero et al，1998）。V_E 65 IU/kg饲料和V_c 1 mg/kg水单独或合用均能促进热应激条件下母鸡淋巴细胞的增殖，并且二者合用效果最明显，但二者之间没有明显的协同促进作用（Puthpongsiriporn et al，2001）。低剂量的 V_c（200 mg/kg·bw）和V_E（200 mg/kg·bw）单独或混合

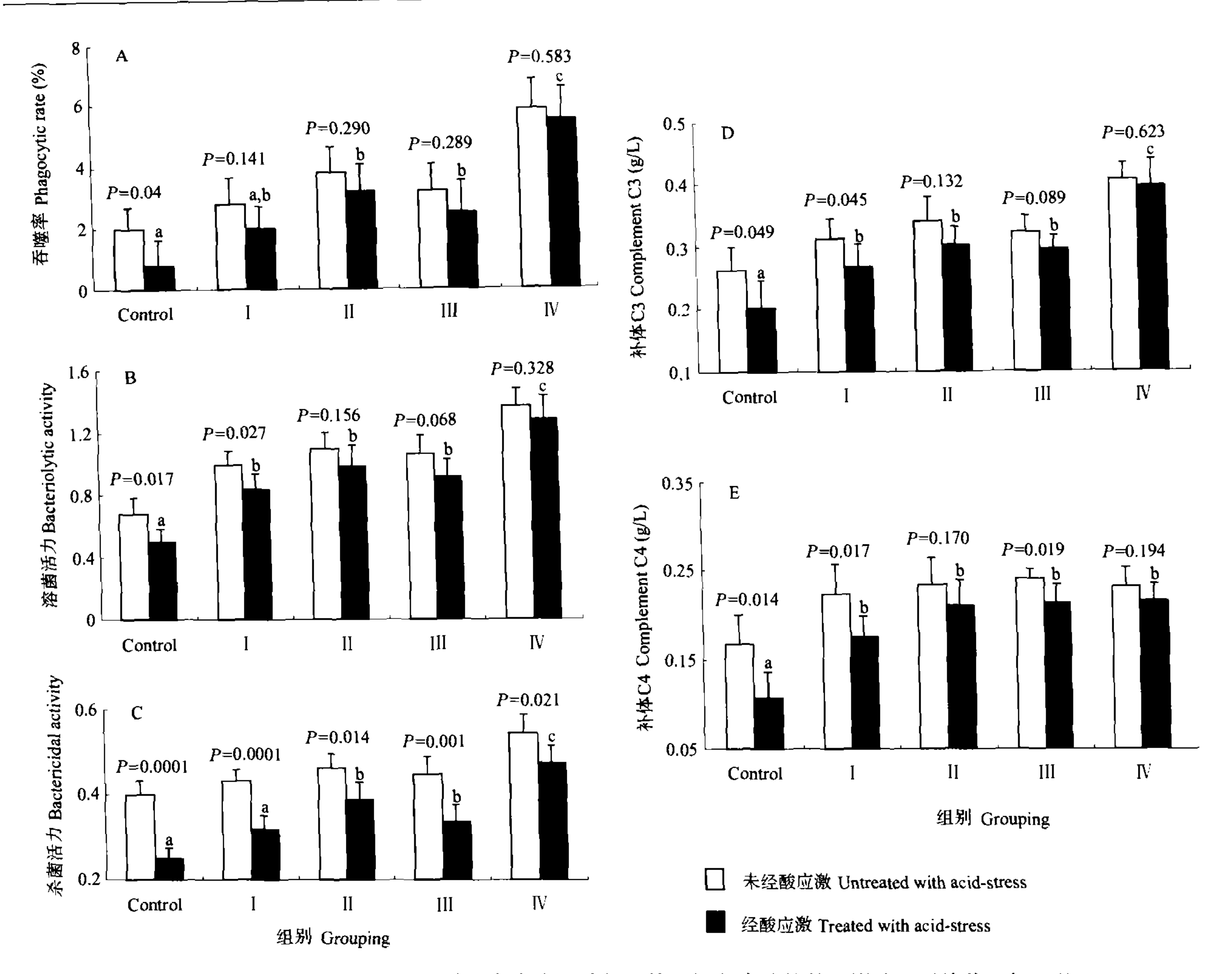


图 1 混合饲喂 V_c 和 V_E 对酸应激中华鳖幼鳖非特异性免疫功能的的影响（平均值±标准差）

Fig.1 Effects of the combination of vitamin C and E on non-specific immune functionin acid-stressed juvenile soft-shelled turtles ($\overline{X} \pm SD$)

A：血细胞吞噬率（Phagocytic rate of blood cell）；B：血清溶菌活力（Serum bacteroilytic activity）；C：血清杀菌活力（Serum bactericidal activity）；D：血清补体 C3 含量（Content of serum complement C3）；E：血清补体 C4 含量（Content of serum complement C4）。

Control：对照组，指饲料中未添加 V_c 和 V_E；Ⅰ－Ⅳ：处理Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ组，依次添加 V_c 和 V_E 为 250 和 50、2 500 和 50、250 和 250、2 500 和 250 mg/kg。

柱上不同字母表示经酸应激各组间差异显著（Duncan 多重比较，$P<0.05$）；P 值表示同一剂量组酸应激前和酸应激后的比较（t 检验）。

Control: Control group fed with V_c and V_E supplementation at the dosage of 0 and 0 mg/kg diet; Ⅰ－Ⅳ: treated Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ group fed with V_c and V_E supplementation at the dosage of 250 and 50, 2 500 and 50, 250 and 250, 2 500 and 250 mg/kg diets, respectively.

The values with different superscript letter are significant different among different dose groups treated with acid-stress (Duncan's multiple range test, $P<0.05$); P values are the comparative results per dose groups between non-acid stress and acid stress (t test).

（V_c100 + V_E100 mg/kg·bw）使用能明显减少有害化学物质引起的大鼠骨髓细胞的染色体畸变，但没有发现二者之间有交互作用；而中、高剂量的 V_c（400、800 mg/kg·bw）和 V_E（400、800 mg/kg·bw）单独或混合（V_c200 + V_E200，V_c400 + V_E400 mg/kg·bw）对其没有影响（Antunes & Takahashi，1998）。V_c 和 V_E 单独或合用，都能使肝中脂质过氧化物降低；但大剂量 V_c 和 V_E 合用，反而不如单独使用 V_c 的抗脂质过氧化的作用大（Feng et al，1993）。用 15 mg/kg 的 V_E 分别与 33、660 和 13 200 mg/kg的 V_c，660 mg/kg的 V_c 分别与 15、150和 1 500 mg/kg 的 V_E 混合添加，对非应激的正常豚鼠肝脏 DNA 的氧化损伤均无影响（Cadenas et al，1997）。我们的结果表明，V_c 和 V_E 特别是高剂量的 V_c 和 V_E 合用，能缓解或部分缓解（如杀菌活力）酸应激导致的中华鳖免疫功能的下降，并且二

者间有明显协同作用。上述这些实验结果差异，可能与 V_c 和 V_E 的添加量以及个体的特异性有关：机体在特定条件下发挥其抗应激能力所需的 V_c 和 V_E 可能有一个最佳剂量范围，过高或过低都会影响其抗应激潜力的发挥；不同个体或同一个体在不同的条件下促进其免疫和抗应激能力所需的 V_c 和 V_E 的量也可能不同。营养状态和营养物质能直接（如触发免疫细胞的活性、改变免疫细胞间的相互作用）或间接（如改变DNA合成的底物、能量代谢、细胞生理的完整性、激素）地影响免疫系统，而免疫状态的改变又反过来影响机体的营养状态。机体在感染状态下对营养物质的吸收和利用的效率降低，从而使代谢率、激素的分泌、肝脏中蛋白质和脂质的合成以及细胞内酶（如糖异生作用和脂肪合成需的酶）的分泌发生改变，同时也会使微量元素在体内重新分配（Mainous & Deitch，1994；Keusch & Farthing，1986），机体内的这些变化都将影响其抗应激能力。

3.2 V_c 和 V_E 混用的可能机理

V_c 和 V_E 混合饲喂对酸应激引起的中华鳖免疫功能下降有协同保护作用，其原因可能是：① V_c 的抗氧化作用，抑制了自由基的产生，直接减少了机体在应激状态下对 V_E 的消耗。机体在应激条件下能产生大量自由基，而 V_c 和 V_E 单独和二者混合饲喂均能降低受伤猪体内 O^{2-} 的产生（Nunes et al，1997）。人血浆中脂质过氧化物与 V_c 摄入量间呈明显负相关（HuangFu & Xu，1992）。人红细胞内的抗坏血酸盐能减少在氧化应激状态下红细胞膜上的 V_E 的丧失，而从红细胞中缓慢释放出来的 V_c 能防止血浆中低密度脂蛋白中 V_E 的氧化（May，1998）。② V_c 通过恢复 V_E 的活性，提高了体内 V_E 的含量。V_c 能恢复微团的不饱和脂质（Barclay et al，1983）和卵磷脂脂质体（Niki et al，1985）中 V_E 的活性。红细胞内的抗坏血酸盐不仅能减少在氧化应激下红细胞膜内的 V_E 的利用，而且能恢复红细胞膜中 V_E 的活性（May，1998）。这样，V_c 通过对 V_E 的节省和更新，促进 V_E 对机体的免疫和抗应激能力。③ V_E 能清除自由基、防止过氧化物产生的能力，也直接降低了对 V_c 的利用。细胞膜中 V_E 的浓度与氧化剂诱导的溶血程度呈反比（Shimasaki & Privett，1975）。体内外实验均证明，增加到红细胞膜上的 V_E 能防止体外 γ 射线照射（Brown，1983）和细胞内亲水区自由基（Niki et al，1988）引起的红细胞溶血，而 V_c 是细胞亲水区重要的抗氧化剂（Frei et al，1989）。

综上所述，由于 V_c 和 V_E 都具有抗氧化特性，二者合用都能直接减少对方的消耗；加上 V_c 有更新 V_E 的能力，使二者在体内具有双向交互作用，从而有效地增强了中华鳖的抗应激能力。在本实验条件下，2 500 mg/kg 的 V_c 和 250 mg/kg 的 V_E 混合添加，中华鳖的抗应激能力最强。根据这一结论，建议在人工养殖过程中，在中华鳖的饵料中添加 2 500 mg/kg 的 V_c 和 250 mg/kg 的 V_E，可以增强中华鳖对不利环境的耐受能力，也有利于疾病的预防和控制。

参考文献：

Antunes LM, Takahashi CS. 1998. Effects of high doses of vitamins C and E against doxorubicin-induced chromosomal damage in Wistar rat bone marrow cells [J]. *Mutat Res*, **419** (1-3): 137-143.

Barclay LRC, Locke SJ, MacNeil JM. 1983. The autoxidation of unsaturated lipids in micelles: Synergism of inhibitors vitamins C and E [J]. *Can. J. Chem.*, **61**: 1288-1290.

Brown MA. 1983. Resistance of human erythrocytes containing elevated levels of vitamin E to radiation-induced hemolysis [J]. *Rediat. Res.*, **95**: 303.

Cadenas S, Barja G, Poulsen HE, Loft S. 1997. Oxidative DNA damage estimated by oxo8dG in the liver of guinea-pigs supplemented with graded dietary doses of ascorbic acid and alpha-tocopherol [J]. *Carcinogenesis*, **18** (12): 2373-2377.

Dunier M, Vergnet C, Siwicki AK, Verlhac V. 1995. Effect of Lindane exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immunity: Ⅳ. Prevention of nonspecific and specific immunosuppression by dietary vitamin C (ascorbate-2-polyphosphate) [J]. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **30** (3): 259-268.

Feng B, Liu YJ, Gan ZW, Zhang XY, Yang LQ. 1993. Effects of V_E and V_c on glutathione peroxidase, superoxide dismutases and Peroxide of hepatic and cordis tissue in rats [J]. *J. Aging*, **13** (3): 175-176. [冯 彪，刘亚娟，甘振威，张辛艳，杨丽清. 1993. V_E、V_c 对大鼠肝、心组织中谷胱甘肽过氧化物酶超氧化物歧化酶和过氧化脂质的影响. 老年学杂志，**13** (3): 175-176.]

Frei B, England L, Ames BN. 1989. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**: 6377-6381.

Gross WB. 1988. Effect of ascorbic acid on antibody response of stressed and unstressed chickens [J]. *Avian Diseases*, **32**: 483-485.

Huangfu MS, Xu XF. 1992. Effect of insertion chemotherapy with vitamin E and vitamin C on the levels of plasma LPO and RBC SOD in pulmonary cancer patients [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, **14** (4):

368－372.［皇甫梅生，许显福．1992．维生素E和C对肺癌介入化疗患者血浆LPO及红细胞SOD水平的影响．营养学报，**14**（4）：368－372.］

Hultmark D，Steiner H，Rasmuson T，Boman HG．1980．Insect immunity：Purification and properties of three inducible bactericidal protein from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia* ［J］．*Eur*．*J*．*Biochem*．，**106**：7－16.

Jeney G，Galeotti M，Volpatti D，Jeney Z，Anderson DP．1997．Prevention of stress in rainbow trout（*Oncorhynchus mykiss*）fed diets containing different doses of glucan［J］．*Aquaculture*，**154**：1－15.

Keusch GT，Farthing MJG．1986．Nutrition and infection［J］．*Annu*．*Rev*．*Nutr*．，**6**：131－154.

Mainous MR，Deitch EA．1994．Nutrition and infection［J］．*Surg*．*Clin*．*North Am*．，**74**：659－676.

May JM．1998．Ascorbate function and metabolism in the human erythrocyte［J］．*Biosci*．，**3**：D1－D10.

Mulero V，Esteban MA，Meseguer J．1998．Effects of *in vitro* addition of exogenous vitamins C and E on gilthead seabream（*Sparus aurata* L.）phagocytes［J］．*Vet*．*Immunol*．*Immunopathol*．，**66**（2）：185－199.

Niki E，Kawakami A，YamamotoY．1985．Oxidation of lipids：Ⅷ．Synergistic inhibition of oxidation of phosphatidylcholine liposome in aqueous dispersion by vitamin E and vitamin C［J］．*Bull*．*Chem*．*Soc*．*Jpn*．，**58**：1971－1975.

Niki E，Komuro E，Takahashi M，Urano S，Ito E，Terao K．1988．Oxidative hemolysis of erythrocytes and its inhibition by free radical scavengers［J］．*J*．*Biol*．*Chem*．，**263**：19809－19814.

Nunes GL，Robinson K，Kalynych A，King SB，Sgoutas DS，Berk BC．1997．Vitamins C and E inhibit O^{2-}-production in the pig coronary artery［J］．*Circulation*，**96**（10）：3593－3601.

Pardue SL，Thaxton JP，Brake J．1985．Role of ascorbic acid in chicks exposed to high environmental temperature［J］．*J*．*Appl*．*Physiol*．，**58**（5）：1511－1516.

Puthpongsiriporn U，Scheideler SE，Sell JL，Beck MM．2001．Effects of vitamin E and C supplementation on performance，*in vitro* lymphocyte proliferation，and antioxidant status of laying hens during heat stress［J］．*Poult*．*Sci*．，**80**（8）：1190－1200.

Rotllant J，Pavlidis M，Kentouri M，Abad ME，Tort L．1997．Non-specific immune responses in the red porgy *Pagrus pagrus* after crowding stress［J］．*Aquaculture*，**156**：279－290.

Sacheck JM，Blumberg JB．2001．Role of vitamin E and oxidative stress in exercise［J］．*Nutrition*，**17**（10）：809－814.

Shimasaki H，Privett OS．1975．Studies on the role of vitamin E in the oxidation of blood components by fatty hydroperoxides［J］．*Aich*．*Biochem*．*Biophys*．，**169**：506－512.

Wang AL．1997．The technical study on prevention and control of the epidemic viral disease of *Penaeus chinensis*［D］．Ph．D．thesis，Beijing Normal University．31－32.［王安利．1997．中国对虾（*Penaeus chinensis*）病毒性流行病防治技术研究．北京师范大学博士学位论文．31－32.］

Wang L，Li GY，Mao YX，Zhang HY．1994．Study of effect of immune medicine by oral on the prevention and cure of disease in culture *Penaeus chinensis*［J］．*Oceanol*．*Limnol*．*Sinica*，**25**（5）：486－491.［王 雷，李光友，毛远兴，张海岩．1994．口服免疫型药物对养殖中国对虾病害防治作用的研究［J］．海洋与湖沼，**25**（5）：486－491.］

Wang WQ，Li AJ．1996．Effect of vitamin C on the immune function of *Penaeus chinensis*［A］．In：The Animal Nutrient Branch of China Poultry Veterinary Association．Thesis Collection of Animal Nutrition［C］．Beijing：Chinese Agricultur Univeisity Press．53－58．［王伟庆，李爱杰．1996．维生素C对中国对虾（*Penaeus chinensis*）免疫功能的影响．见：中国畜牧兽医学会动物营养学分会．动物营养研究论文集．北京：中国农业大学出版社．53－58.］

Zhang FM，Zhang SQ，Wang XF．1996．Effects of V_c and V_E on activity of myocardial cells from virus infection［J］．*Acta Nutrimenta Sinica*，**18**（4）：489－491．［张福明，张淑琴，王相峰．1996．维生素C、E对病毒感染心肌细胞活性的影响．营养学报，**18**（4）：489－491.］

Zhou XQ，Niu CJ，Sun RY．2003．Effects of dietary vitamin E on contents of serum complement C3 and C4 in acid stressed juvenile soft-shelled turtles（*Pelodiscus sinensis*）［J］．*Zool*．*Res*．，**24**（6）：452－456．［周显青，牛翠娟，孙儒泳．2003．饵料维生素E含量对酸应激中华鳖幼鳖血清补体C3和C4的影响．动物学研究，**24**（6）：452－456.］